

**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ЮЖНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ДОНСКОЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ**



АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА И АКВАКУЛЬТУРЫ БАССЕЙНОВ ЮЖНЫХ МОРЕЙ РОССИИ

**Материалы Международной научной конференции
г. Ростов-на-Дону
1–3 октября 2014 г.**

**Ростов-на-Дону
Издательство ЮНЦ РАН
2014**

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МИКРОВОДОРОСЛИ *EMILIANIA HUXLEYI* (LOHM.) HAY ET MOHLER В ПИТОМНИКЕ ПО ВЫРАЩИВАНИЮ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ

Л.В. Ладыгина

CULTIVATION OF THE MICROALGA *EMILIANIA HUXLEYI* (LOHM.) HAY ET MOHLER AT A BIVALVE HATCHERY

L.V. Ladygina

*Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского, Севастополь, Россия
lvladygina@yandex.ru*

В последнее десятилетие в фитопланктоне наблюдается усиление роли кокколитофориды *Emiliana huxleyi* [1,2]. Ежегодные цветения *E. huxleyi*, начиная с 2002 г., стали обычным явлением для Чёрного моря. Максимум её численности в районе марихозяйства в б. Ласпи в 2009–2011 гг. составлял 2,67–18,33 млн.кл/л. В 2012 г. в северо-восточной части Чёрного моря отмечено аномальное по интенсивности и продолжительности (май – июль) цветение кокколитофориды, которое не наблюдалось за последние 15 лет [4]. В июле 2012 г в районе Севастопольского взморья также была отмечена вспышка численности кокколитофориды – до 3,1 млрд.кл/л. Во время цветения *E. huxleyi* численность её может составлять до 90 % от всех микроводорослей фитопланктона и поэтому в этот период она является основным источником пищи для зоопланктона.

По морфологическим и биохимическим характеристикам микроводоросль *E. huxleyi* – перспективный кормовой объект для двустворчатых моллюсков. Пищевая ценность водоросли определяется высоким содержанием белка 25–30 % и липидов 45–60 %, которые на 38–40 % состоят из докозагексаеновой жирной кислоты (22:6 n-3) [8]. Клетки *E. huxleyi* имеют округлую форму, удобную для заглатывания личинками и спатом двустворчатых моллюсков. Введение микроводоросли в рацион личинкам мидий способствовало увеличению их темпа роста в 2 раза и быстрому оседанию на субстрат (наши неопубликованные данные). Всё это позволяет рекомендовать использовать *E. huxleyi* в качестве добавки к основному корму при выращивании личинок и спата двустворчатых и брюхоногих (рапана) моллюсков в условиях питомника.

Цель работы: определить оптимальные условия культивирования микроводоросли *E. huxleyi* в питомнике по выращиванию личинок и спата двустворчатых моллюсков.

Материал и методы. Микроводоросль *E. huxleyi* выделена из природного фитопланктона и адаптирована к новым условиям культивирования. В результате получена альгологически чистая культура, представляющая одиночные клетки, средний размер которых 8×8 мкм, объём 254 мкм³.

Водоросль культивировали на 3-х питательных средах: Конвея, Guillard F/2

и Тренкеншу в накопительном режиме в круглых плоскодонных колбах ($V = 2$ л), при температуре 22–24 °С, освещённости 6 клк, с применением барботажа и без него. Численность клеток подсчитывали с помощью камеры Горяева под микроскопом МБС-6. Сырую биомассы микроводорослей определяли путем центрифугирования суспензии с последующим отмыванием осадка от остатков солей, содержащихся в культуральной среде, изотоничным раствором соли.

Результаты и обсуждение. На первом этапе водоросль культивировали на питательной среде Конвея с применением барботажа. Максимальная биомасса культуры 107,35 мг/л (сырой вес) получена на 7-е сутки. Однако при постоянном барботировании клетки водоросли соединялись друг с другом и образовывали «хлопья» на дне колбы. Подвижность их нарушалась, они переставали делиться, что приводило к снижению численности и биомассы культуры. Культивирование *E. huxleyi* при тех же условиях, но без барботажа позволило получить биомассу в два раза больше – 220,35 мг/л (рис. 1).

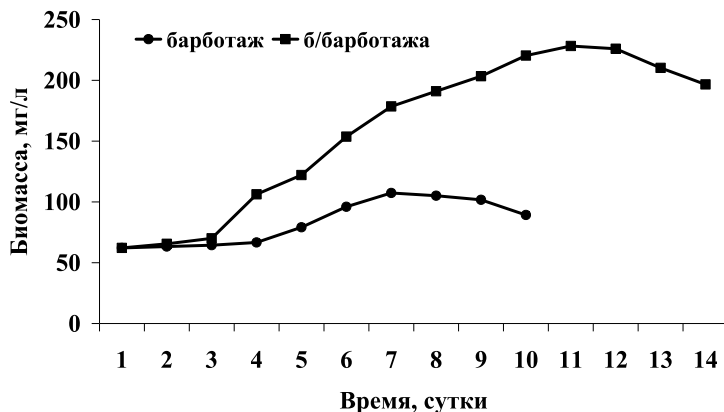


Рисунок 1. Накопление биомассы *Emiliana huxleyi* с использованием барботажа и без барботажа.

Дальнейшее определение оптимальных условий культивирования коколито-фориды основано на подборе концентраций азота и фосфора в питательной среде, которые влияют на скорость роста микроводоросли и накопление биомассы. По результатам двухфакторного эксперимента по схеме ПФЭ 2^2 было получено уравнение регрессии зависимости численности клеток *E. huxleyi* от концентрации нитратов и фосфатов в накопительной культуре на стационарной фазе роста [3].

$$N_{ст.} = 20,76 + 12,34 X_1 + 16,34 X_2 + 13,2 X_1 X_2$$

Величины коэффициентов в уравнении регрессии, описывающих уровень накопления клеток ($N_{ст.}$) указывают на то, что существенный эффект на рост микроводоросли оказывает одновременная добавка азота и фосфора. Однако концентрация фосфатов является значимым фактором роста *E. huxleyi* в накопительной культуре.

Сведения о количестве азота и фосфора, необходимые для роста *E. huxleyi*, сильно отличаются. По литературным данным в природе кокколитофорида могут активно развиваться при низких концентрациях фосфора, следовательно, при высоких соотношениях азота и фосфора [6,7,3]. Это является основным фактором высокой конкурентоспособности этой водоросли [5]. Однако другие авторы утверждают, что высокое соотношение нитратов и фосфатов не является обязательным условием возникновения цветения кокколитофорид [9].

Поэтому для оптимизации содержания биогенов в питательной среде культивирование микроводоросли осуществляли на 3-х средах: Конвея, Тренкеншу и Guillard F/2, где соотношение N: P составляло соответственно 2,35, 5,76 и 14,19 (табл. 1).

Таблица 1

Концентрации фосфатов, неорганического азота (мг/л) и отношение азота к фосфору в питательных средах

Питательная среда	NO ₃ (мг/л)	PO ₄ (мг/л)	N:P
Конвея	16,5	7	2,35
Тренкеншу	300	52	5,76
Guillard F/2	12,35	0,87	14,19

Максимальная концентрация клеток микроводоросли *E. huxleyi* (2,5 млн.кл/мл) получена при выращивании на питательной среде F/2 (рис. 2). Плотность культуры на питательных средах Конвея и Тренкеншу была значительно меньше и составляла соответственно 1,91 и 0,84 млн.кл/мл. Следовательно, при культивировании кокколитофорида в питомнике наиболее оптимальной является питательная среда F/2, где соотношение азота и фосфора было высоким.

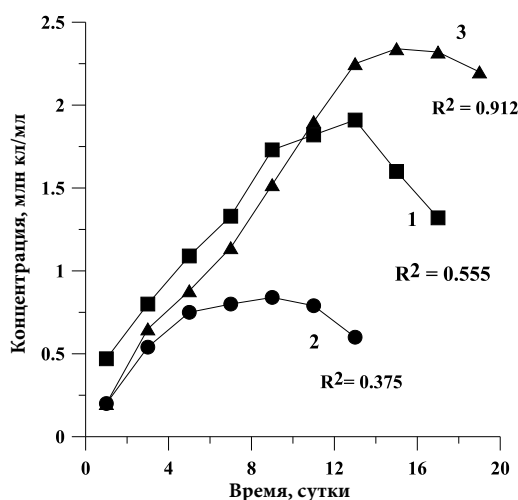


Рисунок 2. Динамика роста микроводоросли *Emiliana huxleyi* на разных питательных средах: 1 – среда Конвея; 2 – среда Тренкеншу; 3 – среда Guillard F/2

В следующем эксперименте увеличивали концентрации азота и фосфора в питательной среде F/2 в 2 и 4 раза (что соответствовало средам F и 2F), при этом соотношение N:P = 14,19 оставалось исходным. Максимальная биомасса (420,3 мг/л) кокколитофориды получена на среде 2 F (рис. 3). Несколько меньше она была на среде F – 412,4 мг/л. Однако различия биомассы были не значительные, поэтому для культивирования *E. huxleyi* целесообразнее использовать питательную среду F.

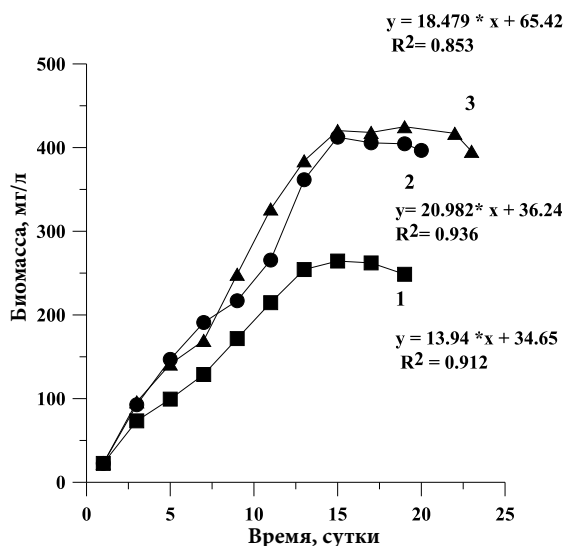


Рисунок 3. Динамика накопления биомассы микроводоросли *Emiliana huxleyi* при культивировании на питательных средах: 1 – F/2; 2 – F; 3 – 2 F.

Таким, образом, оптимальными условиями для выращивания кокколитофориды *E. huxleyi* в условиях питомника являются: питательная среда Guillard F, температура 22–24 °С, круглосуточная освещённость 6 клк и отсутствие барботажа.

Список использованной литературы

1. Паутова Л.А., Микаэлян А.С., Силкин В.А. Структура планктонных фитоценов шельфовых вод северо-восточной части Чёрного моря в период массового развития *Emiliana huxleyi* в 2002–2005 гг. // Океанология. 2007. 47, № 3. С. 408–417.
2. Стельмах Л.В., Сеничева М.И., Бабич И.И. Эколого-физиологические основы «цветения» воды, вызываемого *Emiliana huxleyi* в Севастопольской бухте // Экология моря. 2009. 77. С. 28–32.
3. Силкин В.А., Паутова Л.А., Микаэлян А.С. Рост кокколитофориды *Emiliana huxleyi* (Lohm.) Hay et. Mohl. в северо-восточной части Чёрного моря, лимитированный концентрацией фосфора // Альгология. 2009. Т. 19, № 2. С. 135–144.

4. Ясакова О.Н., Станичный С.В. Аномальное цветение *Emiliania huxleyi* (Prymnesiophyceae) в Чёрном море в 2012 г. // Морський екологічний журнал. Т. 11, № 4. С. 54.
5. Aksness D.L., Egge J.K., Rosland R., Hiemdal B.R. Representation of *Emiliania huxleyi* in phytoplankton simulation models. A first approach // Sarsia. 1994. 79. P. 291–300.
6. Fernández E., Fritz J., Balch W. Chemical composition of the coccolithophorid *Emiliania huxleyi* under light-limited steady state growth // Experimental Marine Biology and Ecology. 1996. 207, № 1. P. 149–160.
7. Egge J.K., Aksness D.L. Silicate as regulating nutrient in phytoplankton competition // Mar. Ecol. Prog. Ser. 1992. 83. P. 281–289.
8. Egge J.K., Hiemdal B.R. Blooms of phytoplankton including *Emiliania huxleyi* (Haptophyta). Effects of nutrient supply in different N: P ratios // Sarsia. 1994. 79. P. 333–348.
9. Lessard E.J., Merico A., Tyrell T. Nitrate:phosphate ratios and *Emiliania huxleyi* blooms // Limnol. Oceanogr. 2005. 50. P. 1020–1024.